

B-100 生物柴油脂肪酸甲酯中游离甘油和 总甘油含量测定法(气相色谱法)

1 范围

1.1 本标准规定了采用气相色谱法测定 B-100 生物柴油脂肪酸甲酯中游离甘油和总甘油含量的方法。游离甘油的检测范围为 0.005% (质量分数) ~ 0.05% (质量分数), 总甘油的检测范围为 0.05% (质量分数) ~ 0.5% (质量分数)。本标准不适用于由含有较多十二烷酸甘油酯的植物油(如椰子油和棕榈核油)合成的生物柴油中游离甘油和总甘油含量的测定。

1.2 本标准采用国际单位制[SI]单位。

1.3 本标准涉及某些安全问题, 但是并未对所有安全问题提出建议。本标准的用户在使用前有责任建立适当的安全保健措施, 并确定适当的规章制度。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件, 其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准, 然而, 鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件, 其最新版本适用于本标准。

GB/T 4946 气相色谱法术语

GB/T 9722 化学试剂——气相色谱法通则

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1 定义

3.1.1

B-100 生物柴油 Biodiesel(B-100)

由植物油或动物脂肪制备而成的一种燃料, 组成为长链脂肪酸单烷基酯。

3.1.2

键合甘油 Bonded glycerin

单脂肪酸甘油酯、二脂肪酸甘油酯和三脂肪酸甘油酯分子中连接的甘油部分。

3.1.3

总甘油 Total glycerin

游离甘油和键合甘油的总和。

3.2 此方法引用了许多常规气相色谱法的操作步骤、术语及术语间的关系等相关内容。详细说明见 GB/T 4946 和 GB/T 9722。

4 方法概要

样品经 *N*-甲基-*N*-三甲基硅烷基三氟乙酰胺(MSTFA)硅烷化后, 采用气相色谱法分析。定量过程采用双内标和四种参比物对结果进行校正。单脂肪酸甘油酯、二脂肪酸甘油酯和三脂肪酸甘油酯的测定分别采用单油酸甘油酯、二油酸甘油酯和三油酸甘油酯作为标准参考物。利用平均转化因子计算试样中键合甘油的含量。

5 意义和用途

游离和键合甘油的含量反映生物柴油的质量。游离甘油含量高，会在储存过程中或燃料系统中产生分层现象；而总甘油含量高，则引起喷油嘴堵塞或者在喷油器的活塞和阀门等部位形成沉积物。

6 仪器

6.1 气相色谱仪系统

参阅 GB/T 4946 详细的名称和定义。

6.1.1 气相色谱仪：仪器配置必须能满足表 1 所规定的色谱分析条件的要求。

6.1.2 色谱柱：5% 苯基二甲基聚硅氧烷交联键合固定相或 100% 二甲基聚硅氧烷固定相的开管柱，柱子的最高使用温度可达到 400℃。柱长 10m 或 15m，内径 0.32mm，液膜厚度 0.1μm 的色谱柱可获得良好的分离效果。具有相同或更好的柱效或选择性的其他色谱柱也可使用。建议使用 2m~5m 长、内径 0.53mm 的高温色谱柱接在分析柱之前与进样口相连，这样可以使用自动进样器，同时可以延长柱子的使用寿命。

6.2 电子数据采集系统

6.2.1 积分仪或计算机：能够实现实时绘图和色谱数据转换，自动积分测量色谱峰的面积和保留时间。

6.2.2 数据处理系统可以实施多级内标校正运算过程，计算校正曲线的相关系数 r_2 ，并采用内标法对数据进行处理。

表 1 色谱分析条件

	条 件 1	条 件 2
进样口 进样量	冷柱头柱上进样口 1μL	冷柱头柱上进样口 1μL
色谱柱升温程序 初温 一阶 二阶 三阶	50℃保持 1min 升温速率 15℃/min 到 180℃ 升温速率 7℃/min 到 230℃ 升温速率 30℃/min 到 380℃，保持 10min	70℃保持 1min 升温速率 15℃/min 到 190℃ 升温速率 7℃/min 到 260℃ 升温速率 30℃/min 到 380℃，保持 10min
检测器 检测器温度	火焰离子化检测器(FID) 380℃	火焰离子化检测器(FID) 380℃
载气类型 流量	氮气或氢气 3mL/min(50℃时)	氮气 2mL/min(50℃时)

7 试剂和材料

7.1 试剂纯度：所用试剂均为分析纯。其他级别的试剂也可使用，必须保证不会降低分析的精度。

7.2 正庚烷：分析纯。

7.3 *N*-甲基-*N*-三甲基硅烷基三氟乙酰胺(MSTFA)：分析纯。

7.4 吡啶：分析纯。

7.5 载气：使用高纯度氮气、氢气或氦气，纯度大于 99.99%。净化载气使用分子筛或其他的吸附剂去除水分、氧气和烃类杂质，选用的载气压力要保证载气的流速。

- 7.6 微升注射器或移液器：容量为 100 μL 和 250 μL 。
- 7.7 带盖样品瓶：带聚四氟乙烯密封垫，容量 2mL 和 10mL。
- 7.8 容量瓶：10mL、25mL、50mL。

8 仪器准备

8.1 按照仪器厂家说明安装并老化色谱柱，色谱柱老化完成后，将色谱柱出口与检测器相连接，对系统检漏，并采取措施消除发现的漏点。在开始试验前，重新对系统进行检漏。

9 校正和标准化

9.1 校正标样的制备

按要求制备表 2 所列的标样。直接在容量瓶中称量纯组分的质量，准确至 0.1mg，用吡啶稀释至刻度。配好的标准溶液置于冰箱中保存备用。

表 2 单组分储备溶液

化 合 物	CA 索引	称量质量 mg	稀释体积 mL
甘油	56-81-5	25	50
(R,S)-1-单-[顺-9-十八烯酰]甘油(单油酸甘油酯)	111-03-5	50	10
1,3-二[顺-9-十八烯酰]甘油(二油酸甘油酯)	2465-32-9	50	10
1,2,3-三[顺-9-十八烯酰]甘油(三油酸甘油酯)	122-32-7	50	10
(S)-(-)-1,2,4-丁二醇(内标 1)	42890-76-6	25	25
正十五烷(替代内标 1)	629-62-9	20	10
1,2,3-三癸酰甘油(三癸酸甘油酯)(内标 2)	621-7-6	80	10

9.2 混合标样的制备

按照表 3 所列的量，用微量注射器或移液器移取规定体积的校正标样于 10mL 带盖样品瓶中，制备五种混合标准溶液。向五种标准溶液中分别加入 100 μL 的 MSTFA，盖上瓶盖摇动，然后在室温下静置 15min~20min，向样品瓶中加入约 8 mL 的正庚烷，摇匀备用。

表 3 标准溶液

标准溶液编号	1	2	3	4	5
甘油体积, μL	10	30	50	70	100
单油酸甘油酯体积, μL	20	50	100	150	200
二油酸甘油酯体积, μL	40	20	40	70	100
三油酸甘油酯体积, μL	10	20	40	70	100
1,2,4-丁二醇, μL	100	100	100	100	100
正十五烷, μL	100	100	100	100	100
三癸酸甘油酯, μL	100	100	100	100	100

9.3 色谱分析

如果使用自动进样器进样分析，取一定量的混合溶液于 2mL 带盖样品瓶中进行分析。

9.4 标准化

9.4.1 校正标样的测定采用与样品测定相同的色谱条件进行分析。向冷柱头柱上进样口注入 1 μL 混合标样的硅烷化产物并开始采集，得到一张色谱图和积分报告。对每一种参比物，按照式(1)和(2)计算响应值之比(rsp_i)和质量比(amt_i)。

$$rsp_i = (A_i/A_s) \dots\dots\dots (1)$$

式中：

A_i ——参比物的面积,

A_s ——内标的面积。

$$amt_i = (W_i/W_s) \dots\dots\dots (2)$$

式中:

W_i ——参比物的质量, mg;

W_s ——内标的质量, mg。

以 rsp_i 作 y 轴, amt_i 作 x 轴绘制每一种参比物的标准曲线。

9.4.2 按照式(3)计算每一种参比物的相关系数 r^2 。相关系数 r^2 应不小于 0.99, 如果计算的 r^2 低于此值, 检查仪器的参数和硬件配置并重新运行校正过程。

$$r^2 = \frac{(\sum xy)^2}{(\sum x^2)(\sum y^2)} \dots\dots\dots (3)$$

$$x = X_i - \bar{x} \dots\dots\dots (4)$$

$$y = Y_i - \bar{y} \dots\dots\dots (5)$$

式中:

X_i ——质量比(amt_i)数据点;

$\bar{x}$ ——所有质量比(amt_i)数据点的平均值;

Y_i ——相应响应比(rsp_i)数据点;

$\bar{y}$ ——所有响应比(rsp_i)数据点的平均值。

9.4.3 标准曲线方程: 每种参比物的标准曲线方程用式(6)表示。

$$W_x/W_{is} = a_x \times (A_x/A_{is}) + b_x \dots\dots\dots (6)$$

式中:

W_x ——参比物的质量, mg;

W_{is} ——内标的质量, mg;

A_x ——参比物的峰面积;

A_{is} ——内标的峰面积;

a_x ——校正曲线方程的斜率;

b_x ——校正曲线方程的截距。

10 试验步骤

10.1 参照表 1 中给出的条件 1 或条件 2 设定仪器参数。直接在 10mL 样品瓶中称量约 100mg 试样, 准确到 0.1mg, 再用微量注射器或移液器精确移取各 100 μ L 的内标和硅烷化试剂(MSTFA)于样品瓶中, 摇匀, 在室温下静置 15min~20min, 向样品瓶中加入约 8mL 的正庚烷, 摇匀备用。

10.2 注射 1 μ L 样品的硅烷化产物于柱上进样口并运行仪器, 得到色谱图和面积积分报告。

10.3 峰定性: 根据标样的保留时间进行定性, 其他峰的定性参照表 4 的相对保留时间以及图 1 所示参考谱图。单脂肪酸甘油酯、二脂肪酸甘油酯、三脂肪酸甘油酯根据碳数的不同而分离。

10.4 单脂肪酸甘油酯由四个重叠峰组成, 其相对于内标物三癸酸甘油酯的相对保留时间是 0.76 和 0.83~0.86, C_{24} 的脂肪酸甲酯对应的一组峰的相对保留时间是 0.80~0.82, 不能计入单脂肪酸甘油酯。

10.5 二脂肪酸甘油酯同样按照碳数分离, 但由于分子中双键位置的变化, 色谱峰很难达到基线分离。相对保留时间为 1.05~1.09 的 3 至 4 个峰属于二脂肪酸甘油酯的色谱峰(碳数为 34、36 和 38)。三脂肪酸甘油酯也按照碳数分离。相对保留时间介于 1.16~1.31 之间的色谱峰计算为三脂肪酸甘油酯(碳数为 52、54、56 和 58)。

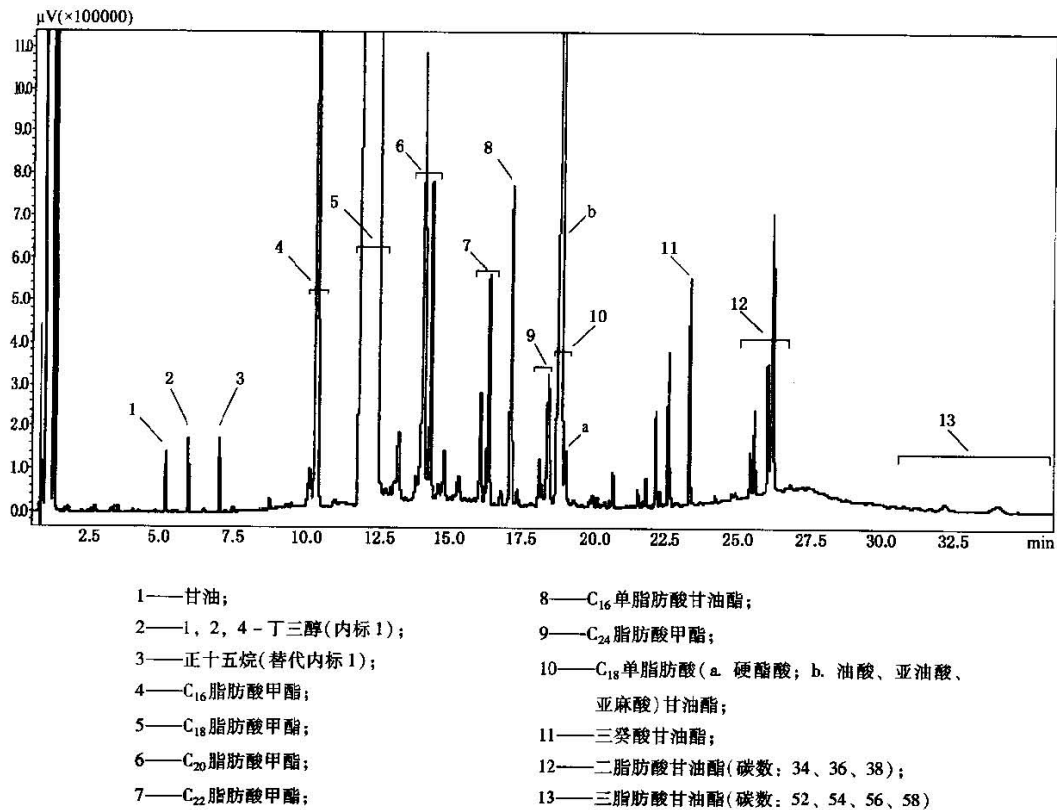


图 1 典型色谱图

表 4 组分相对保留时间

化 合 物	使用内标	相对保留时间
甘油	1	0.85(0.71 ^a)
1, 2, 4 - 丁三醇(内标 1)		1.00
正十五烷(替代内标 1)		1.00
单棕榈酸甘油酯	2	0.76
单油酸甘油酯、单亚油酸甘油酯、单亚麻酸甘油酯、单硬脂酸甘油酯	2	0.83 ~ 0.86
三癸酸甘油酯(内标 2)		1.00
二脂肪酸甘油酯	2	1.05 ~ 1.09
三脂肪酸甘油酯	2	1.16 ~ 1.31

^a 采用正十五烷作内标甘油的相对保留时间为 0.71。

11 计算和报告

11.1 在对色谱峰定性后, 计算甘油、单脂肪酸甘油酯、二脂肪酸甘油酯、三脂肪酸甘油酯对应各色谱峰的面积。根据标准曲线方程的斜率和截距, 计算甘油、单脂肪酸甘油酯、二脂肪酸甘油酯、三脂肪酸甘油酯的质量分数。

11.1.1 甘油的质量分数, 按式(7)计算:

$$G = (a_g \times A_g / A_{inl} + b_g) \times W_{inl} \times 100 / W \dots\dots\dots (7)$$

式中:

G——试样中甘油的含量, % (质量分数);

A_g ——甘油的峰面积;
 A_{is1} ——内标 1 的峰面积;
 W_{is1} ——内标 1 的质量, mg;
 W ——试样的质量, mg;
 a_g ——校正曲线方程的斜率;
 b_g ——校正曲线方程的截距。

11.1.2 甘油单酯、甘油二酯、甘油三酯各组分的质量分数,按式(8)计算:

$$GL_i = (a_{ol} \times A_{gli}/A_{is2} + b_{ol}) \times W_{is2} \times 100/W \dots\dots\dots (8)$$

式中:

GL_i ——试样中各脂肪酸甘油酯的含量,%(质量分数);
 A_{gli} ——每个脂肪酸甘油酯的峰面积;
 A_{is2} ——内标 2 的峰面积;
 W_{is2} ——内标 2 的质量, mg;
 W ——试样的质量, mg;
 a_{ol} ——单脂肪酸甘油酯、二脂肪酸甘油酯、三脂肪酸甘油酯的校正曲线方程的斜率;
 b_{ol} ——单脂肪酸甘油酯、二脂肪酸甘油酯、三脂肪酸甘油酯的校正曲线方程的截距。

11.1.3 总甘油的质量分数按式(9)计算:

$$\text{总甘油质量分数} = \text{游离甘油质量分数} + \text{键合甘油质量分数} \dots\dots\dots (9)$$

式中:

游离甘油质量分数由式(7)求得;

$$\text{键合甘油质量分数} = \Sigma (GL_M, GL_D, GL_T)$$

式中:

GL_M —— $0.2591 \times \Sigma$ 单脂肪酸甘油酯的质量分数(由式(8)求得);
 GL_D —— $0.1488 \times \Sigma$ 二脂肪酸甘油酯的质量分数(由式(8)求得);
 GL_T —— $0.1044 \times \Sigma$ 三脂肪酸甘油酯的质量分数(由式(8)求得)。

11.2 报告游离甘油和总甘油的含量,精确至 0.001%(质量分数)。

12 精密度和偏差

12.1 重复性

同一操作者,使用相同仪器,对同一试样测得的两个验结果之差,不应超过表 5 所列的数值(95%置信水平)。

表 5 重 复 性

组 分	重复性,%(质量分数)
游离甘油	0.001
单脂肪酸甘油酯	0.021
二脂肪酸甘油酯	0.021
三脂肪酸甘油酯	0.032
键合甘油	0.008
总甘油	0.009

12.2 偏差

由于没有可供测试的标准物质,因此方法的偏差未确定。